

Institut für Veterinärpathologie der Universität Zürich

(Direktor: Prof.Dr.Dr.h.c. H. Stünzi)

und

Institut für Pathologie der Universität Basel

(Direktor: Prof.Dr. Ph.U. Heitz)

Neuropathologische Abteilung

(Leiter: Prof.Dr. J. Ulrich)

ALTERSVERÄNDERUNGEN IM HUNDEHIRN

UNTER BESONDERER BERÜCKSICHTIGUNG VON

IMMUNHISTOCHEMISCHEN UNTERSUCHUNGEN

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Veterinär-Medizinischen Fakultät
der Universität Zürich

vorgelegt von
MARINA EULER
Tierärztin, von Basel

genehmigt auf Antrag von
Prof.Dr. H.Stünzi, Referent
Prof.Dr. J.Ulrich, Ko-Referent

Zürich 1986

Druckerei OKT, Basel



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41507227_0002

LISTE DER VERWENDETEN ABKUERZUNGEN:

ABC	avidin-biotin-peroxydase complex	
DAB	Diaminobenzidintetrachlorid + H ₂ O ₂	
DAT	Demenz Alzheimer Typ	
E	Euthanasie	
Gef.am.	Gefässamyloidose	
H.E.	Haemalaun-Eosin	
mAB	monoclonal Antibodies	
MS	Multiple Sklerose	
NFV	Neurofibrillenveränderung	
ODE	Old-Dog-Encephalitis	
PAP	Antibody Peroxidase-Antiperoxidase	
PBS	phosphate buffered saline	
PHF	paired helical filaments	
sPl	senile Plaques	
SSPE	subakute sklerosierende Panencephalitis	
ZNS	zentrales Nervensystem	
°	"kleinere" Hunde	} Grenze ca. Grösse Cocker Spaniel
*	"grössere" Hunde	

INHALTSVERZEICHNIS:

A	EINLEITUNG	2
B	FRAGESTELLUNG	7
C	UNTERSUCHUNGSGUT	9
D	ANGEWANDTE METHODEN	14
E	RESULTATE:	19
	1. Makroskopische Befunde	19
	2. Mikroskopische Befunde a) Herkömmliche Methoden	19
	b) Immunhistochemie	28
F	DISKUSSION:	33
	1. Untersuchungen mit herkömmlichen Mitteln	33
	2. Untersuchungen mit Immunhistochemie	35
G	ZUSAMMENFASSUNG	39
H	LITERATUR	43
I	PHOTOS	51

A EINLEITUNG.

Ca. 5% aller Menschen, welche 65 Jahre oder älter sind, leiden an einer fortschreitenden Demenz, deren Ursache bis heute noch nicht bekannt ist. Die Krankheit beginnt unauffällig mit leichter Gedächtnisschwäche für neuere Ereignisse und führt über zeitliche und örtliche Desorientierung zu zunehmender Pflegebedürftigkeit und völliger Hilflosigkeit. Die Patienten werden hochgradig apathisch, was dann häufig zusammen mit akuten Erkrankungen (z.B. Pneumonien) zum Tode führt. Der Volksmund redet von Arterienverkalkung, in Wirklichkeit findet man aber nur in ca. einem Drittel der Fälle tatsächlich sklerotische Gefäße. Die restlichen zwei Drittel sind von Veränderungen, welche man bei der sogenannten Alzheimerschen Krankheit findet (v.a. sog. senile Plaques (sPl) und Alzheimersche Neurofibrillenveränderungen (NFV).) gekennzeichnet. Je nach Alter der Patienten unterscheidet man die Alzheimersche Krankheit von der senilen Demenz Typ Alzheimer. Einfacher spricht man darum generell von der Demenz vom Alzheimer Typ (DAT).

Bis heute kennt man die Ursache dieser heimtückischen Krankheit noch nicht, obwohl sie schon 1906 vom deutschen Neurologen Alois Alzheimer erstmals beschrieben wurde (1), seither als solche bekannt war und zum Objekt vieler Forschungen wurde. Es scheint sich um ein ziemlich komplexes Geschehen zu handeln, werden doch verschiedene Faktoren als mögliche Auslöser der DAT seit längerem diskutiert. So gibt es unter anderem Hinweise, die für eine Erbkrankheit im weiteren Sinne sprechen. Aber auch Umweltgifte und sogenannte Slow-Viren (mit bis zu Jahren dauernder Inkubationszeit) kommen mit guten Gründen als Ursache in Frage. Im Zusammenhang mit der Theorie eines infektiösen Agens (Slow-Virus) als Ursache der DAT, sei auf drei humanmedizinische Krankheiten (Creutzfeld-Jakobsche Krankheit, Kurukrankheit, Gerstmann Sträussler Krankheit) und auch auf eine Krankheit, die für uns Tierärzte und Tierärztinnen von Interesse ist, die Scrapie des Schafes, hingewiesen. Alle vier sind z.T. auf einzelne Laboratoriumstiere übertragbar. Gewisse Stämme der Scrapie

des Schafes sind z.B. leicht auf Mäuse übertragbar (60). Die Hirne der Mäuse zeigen neben Bläschen im Neuropil der Hirnrinde Plaques mit Amyloid im Zentrum, welche den senilen Plaques der DAT sehr ähnlich sehen können. Der naheliegende Zusammenhang zur Veterinärmedizin ist somit gegeben. Auch wurden verschiedentlich vergleichende Untersuchungen mit alten Affen und Hunden von diversen Human- und Veterinärmedizinern gemacht. Sowohl bei Rhesusaffen als auch bei alten Hunden wurden senile Plaques gefunden, was immer wieder zu neueren Forschungen Anlass gegeben hat. Der Hund wurde in der Vergangenheit von den relativ alt werdenden Haussäufern am häufigsten untersucht, da er als gerontologisches Modell fast am besten geeignet erschien. So wies z.B. Pauli unter anderem auf die Ähnlichkeit des Lebensraumes und der Umweltbedingungen von Hund und Mensch hin. Auch sei der Hund wie kein anderes Haustier mit dem Menschen verbunden und auf ihn geprägt (39). In der Alzheimerforschung ist der Hund noch aus weiteren Gründen interessant: Von den drei häufigsten histopathologischen Veränderungen, die man (neben den sogenannten Hirankörpern und der granulovakuolären Degeneration) bei der DAT beim Menschen sehen kann, der Gefäßangiopathie, den senilen Plaques und den Alzheimerschen Neurofibrillenveränderungen, sind die beiden erstgenannten auch beim alten Hund häufig zu finden. Sicherlich hat von Braunnühl (5), der 1956 - mit Hilfe der Kongorotfärbung und einer modifizierten Silberimprägnation - zum ersten Mal beim Hund eine kongophile Angiopathie und senile Plaques fand, auf diesem Gebiet grosse Arbeit geleistet, zumal schon vor ihm einige Autoren (z.B. Müller W. (37)) umfangreiche vergebliche Untersuchungen auf diesem Gebiet gemacht hatten. 1967 berichteten Dahme und Deutschländer (9) über fluoreszenz- und elektronenmikroskopische Untersuchungen der kongophilen Angiopathie bei alten Hunden, was von Pauli, Luginbühl und Rossi 1971 wieder aufgegriffen wurde (40,41). 1970 und 1973 befassten sich Wisniewski et.al. (58,59) ebenfalls mit den senilen Plaques und der cerebralen Amyloidose (wie die kongophile Angiopathie auch genannt wird) beim alten Hund, wobei auch sie die dritte der

häufigsten Alzheimerveränderungen - die Neurofibrillenveränderungen nicht nachweisen konnten. 1968 und 1975 (10,11) wandte sich Dahme (1975 zusammen mit Spengler) von neuem den veränderten Hirngefässen zu, wobei er das Schwergewicht auf Vergleiche mit dem Menschen und wiederum auf elektronenmikroskopische Untersuchungen und darausfolgende ätiologische Hypothesen legte. Das Hauptinteresse der früheren Untersuchungen an Hundehirnen lag vor allem in den morphologischen - auch ultrastrukturellen - Veränderungen selbst (und deren Vergleiche mit dem Menschen), den geeigneten Nachweismöglichkeiten (Färbungen, EM-Techniken etc.) und deren mögliche Ursachen. Lange Zeit befassten sich die verschiedenen Forscher v.a. mit der Suche nach den senilen Plaques und deren Darstellung. Ein Gesamtüberblick der Altersveränderungen beim Hund fehlte weitgehend. Einzig in der Dissertation von Pauli (39) wird eine schöne Zusammenstellung der meisten Veränderungen beim alten Hund gegeben. Er unterteilt sie in die vier Gruppen "Vasculäre Veränderungen", "Gliale Veränderungen", "Neuronale Veränderungen" und "Senile Plaques". Die vasculären Veränderungen bestehen v.a. in einer Fibrose (Fankhauser, Luquinbühl und Mc.Grath 1965 (13)), einer Amyloidose und aus perivascularären Hämosiderinansammlungen (Fankhauser und Luquinbühl 1968 (14)). Unter die Gliaveränderungen fällt eine Verdichtung des glialen Fasernetzes, die z.T. mit den neuronalen Veränderungen verbunden ist (das Neuronen-Glia-Verhältnis verändert sich zu Gunsten der Glia, was unter anderem durch Reparationsprozesse zu erklären ist). Ebenfalls unter die neuronalen Veränderungen fallen degenerative Erscheinungen an Zytoplasma und Kern der Nervenzellen (Ketz 1959 (27)) und intrazytoplasmatische Lipofuscineinlagerungen in Nervenzellen. Als vierte Veränderungsgruppe nennt Pauli die senilen Plaques (sPl), welche er - wie auch die Gefässamyloidose - seinerseits in vier Untergruppen (verschiedene Erscheinungsformen) unterteilt. Trotz dieser umfangreichen Arbeit ist seither, im Vergleich zur humanmedizinischen Forschung über die DAT, wo schon recht grosse Entwicklungen vor sich gegangen sind (v.a. in

Zusammenarbeit mit Biochemikern und Immunologen *), in der Forschung über alte Hundehirne nicht viel neues dazu-
gekommen. Und das, obwohl mehrfach auf die Nützlichkeit des
Tiermodells Hund in der Alzheimer Forschung hingewiesen
wurde (z.B. Pauli 1970 (39)).

Auch bei anderen Krankheiten hat sich die vergleichende
Medizin schon häufig als recht nützlich erwiesen. So weist
Fankhauser 1982 z.B. (15) in einem geschichtlichen Abriss
zur Hundestaupe darauf hin, wie sehr z.B. im Falle der
Staupe der Hund als Tiermodell Bedeutung erlangen kann:
1944 findet Scherrer (44) vergleichend, dass die häufigste
Nervenkrankheit des Hundes eine akute multiple Sklerose
sei, und dass "reine Fälle" ohne viel Bedenken mit der
multiplen Sklerose (MS) des Menschen gleichgesetzt werden
könnten. Als Humanmediziner wusste er über die Staupe an
sich zu wenig Bescheid und schloss aus den ähnlichen
morphologischen Veränderungen bei der MS (v.a. Entmarkung
des ZNS) vom Menschen auf das Tier (NB: Ähnliches ist
bestimmt mit umgekehrtem Vorzeichen auch vorgekommen...).
Heute steht die akute MS des Hundes nicht mehr zur
Diskussion. Doch Scherrers Anstoss, die Staupe als
Studienobjekt für die Probleme der Entmarkung zu benützen
ist immer noch aktuell. Verschiedene Forschungsgruppen,
v.a. in den USA, aber auch in der Schweiz (Vandevelde et.
al.), arbeiten seit mehreren Jahren daran. Fankhauser
umschreibt die Ausgangslage kurz wie folgt: " Neurotrope
Stämme des Staupevirus verursachen eine disseminierte
Enzephalomyelitis mit fokalen Entmarkungen. Staupe und
Masernvirus zeigen antigenetische Verwandtschaften.
Masernvirus oder nahe verwandte Erreger stehen zur
Diskussion in der Pathogenese der SSPE (subakute
sklerosierende Panenzephalitis) und der MS des Menschen,
obschon hier noch alles im Flusse ist. Es scheint daher

* Man weiss heute z.B., dass im Hippocampus und im Cortex
von Patienten mit DAT bis zu 90% weniger Cholinacetyl-
Transferase enthalten ist und kann Plaques und NFV mit
spezifischen Antikörpern bereits anfärben.

berechtigt zu glauben, dass eine gezielte Untersuchung der Staupeenzephalitis mit moderner Methodik geeignet wäre, Einsichten in gewisse Aspekte der Entmarkungsprozesse des Zentralnervensystems zu verschaffen."

1985 wird an einer Tagung der American Association of Neuropathologists wieder neues über spezifische Veränderungen beim alten Hund berichtet: Wen, Wisniewski und Shek (57) finden erstmals bei einer alten Hündin - neben sog. Pick-Körpern, die man beim Menschen bei der Pickschen Krankheit findet - die lange vermissten NFV. Die Hündin, eine Norwegische Elchhündin, verbrachte ihr Leben bei einem berühmten Neuropathologen und erreichte ein Alter von 16,5 Jahren. Sie zeigte Schwierigkeiten im Laufen und Probleme mit dem Kiefortonus, was dem Neuropathologen natürlich nicht entging und ihn dazu veranlasste, nach dem Tod der Hündin eine Hirnuntersuchung durchführen zu lassen. Der Umstand, dass hier entgegen früheren Befunden plötzlich NFV gefunden wurden, war mir bei der vorliegenden Arbeit bewusst, sodass ich mit mehr Hoffnung und Elan suchte. Auch die Tatsache, dass v.Boesch de Aquilar et.al. (4) 1984 in Spinalganglien alter Ratten NFV gefunden hatten, und Spinalganglien von alten Hunden unseres Wissens bis jetzt noch nicht auf solche Veränderungen hin untersucht wurden, stellte eine neue Aufgabe dar.

Nicht zuletzt aber sollten erstmals beim Hund immunhistochemische Untersuchungen durchgeführt und die Resultate mit denen des Menschen verglichen werden.

B FRAGESTELLUNG.

Die Zielsetzung der vorliegenden Arbeit lässt sich in zwei Hauptanliegen unterteilen: Als erstes erschien es wichtig, überhaupt mit der Materie vertraut zu werden. Dafür wurden die **herkömmlichen Färbemethoden**, H.E. (Haemalaun-Eosin), Silberimprägnation nach Holmes und v.a. Thioflavinfärbung, die auch in der Humanpathologie meist Verwendung finden, angewandt. (Elektronenmikroskopische Untersuchungen, wie sie schon verschiedentlich in der Vergangenheit angewendet wurden (z.B.41,58), machten wir keine, da sie - in Anbetracht der Immunhistochemie, die neben den obgenannten herkömmlichen Untersuchungsmethoden noch zur Anwendung gelangen sollte - den Rahmen dieser Arbeit gesprengt hätte.). Dabei ging es zuerst darum, die von den diversen Autoren in der Vergangenheit beschriebenen histologischen Veränderungen zu erkennen und somit das Gefundene zu bestätigen. Was in der Vergangenheit vielleicht ein bisschen zu kurz gekommen war, nämlich die Lokalisationen der verschiedenen Veränderungen, sollte wieder aufgegriffen werden (Könnten doch theoretisch bestimmte Hauptlokalisationen einen Hinweis auf die Pathogenese der DAT geben, z.B. Eintrittspforte eines "Slow Virus" oder Schädigungsmechanismus eines Toxins.). Besonderes Augenmerk wollten wir aber v.a auf die Neurofibrillen- veränderungen , die schon so oft beim Hund vergeblich gesucht und dieses Jahr - wie gesagt - erstmals tatsächlich in Boston bei einer 16,5 jährigen Hündin (57) gefunden wurden, richten. In diesem Zusammenhang wurden auch Spinalganglien alter Hunde mit in die Arbeit einbezogen. Die 1984 von v.Boesch de Aquilar gefunden NFV in Spinalganglien alter Ratten (4) liessen die Hoffnung hochkommen, dass die bisherige NFV-Suche vielleicht nur deshalb erfolglos blieb, weil am falschen Ort gesucht wurde. Gleichzeitig wurden auch Gehirne junger Hunde als Kontrolle untersucht. Es ging v.a. darum, die nachgewiesenen Veränderungen wirklich als ein Zeichen des Alters zu identifizieren.

Ein zweites Hauptanliegen - neben den Untersuchungen mit herkömmlichen Mitteln - war es, die **Immunhistochemie der Altersveränderungen** des Hundes mit derjenigen des Menschen

zu vergleichen. In der Humanpathologie sind schon seit einiger Zeit verschiedene monoklonale Antikörper und polyklonale Seren, welche die Veränderungen der DAT spezifisch anfärben können, bekannt. Mit einigen dieser Antikörper (bzw. Seren) wollten wir diejenigen Histologieschnitte alter Hunde, mit den meisten pathologischen Befunden inkubieren, um allfällige Parallelitäten zum Menschen (Kontrolle: Gehirn eines Menschen mit DAT) zu finden. Dabei kennt man vom Menschen her Antikörper (bzw. Seren), welche unter anderem - neben z.T. normalen Strukturen - geblähte Axone, sPl und NFV spezifisch anfärben können. Es interessierte uns natürlich, ob ähnliche Veränderungen beim Hund sich auch entsprechend anfärben würden. Wir wollten insbesondere wiederum grosses Gewicht auf die NFV - oder eventuelle Vorstufen davon - legen, und die Befunde mit denen junger Hunde und des alternden Menschen vergleichen.

Das eigentliche Ziel dieser Arbeit aber war, - hier mit Hilfe des Tiermodells Hund - einen kleinen Schritt zur Alzheimerforschung beizutragen, damit die Ursache dieser schrecklichen Krankheit eventuell schneller gefunden werden kann.

C UNTERSUCHUNGSGUT.

Die Untersuchungen wurden an 20 alten (bis auf einen 8-jährigen Hund waren alle zw. 12 und 18 Jahren alt) Hunden verschiedenen Geschlechts und verschiedener Rasse durchgeführt. Zur Kontrolle dienten 4 junge, jedoch ausgewachsene Hunde (zw. 2 u. 3 J.), die infolge nicht zentralnervöser Krankheiten euthanasiert werden mussten, und das Gehirn einer 84 J. alten Frau mit erwiesener DAT. Die Hundehirne stammten teils aus dem Institut für vergleichende Neuropathologie der Universität Bern (ältere Blöcke), teils aus dem Sektionsgut des Instituts für Veterinärpathologie der Universität Zürich. Ein weiteres konnte aus einer Privatpraxis im Kanton BL entnommen werden und das menschliche Gehirn wurde von der Neuropathologischen Abteilung des Instituts für Pathologie der Universität Basel zur Verfügung gestellt. Rasse, Geschlecht, "rel.Grösse" (s. unten), Alter und Todesursache - bzw. Grund zur Euthanasie (E)- sind in Tabelle 1 festgehalten.

Tabelle 1: (E = Euthanasie)

<u>Nr.</u>	<u>Rasse</u>	<u>Gr./Geschl.</u>	<u>Alter</u>	<u>Kr.h./Todesurs.</u>
4Q37	Cocker-Spaniel	♂ m.	12	falsch. Toxoplas-moseverdacht -> E
5266	Berner Sennenhd	* m.	15	Epileptiforme Anfälle -> E
5423	Rauhhaar-dackel	° w.	17	Nachhandschwäche -> E
7008	Spitz	° m.	15	ZNS-Krämpfe -> E
7023	Bastard	w.	>16	Manegebewegungen -> E
10630	Pudel	m.	18	Hodentumor -> E
11385	Pudel	w.	>12	Tumor in Trachea-gegend -> E
12609	Husky	* m.	13,5	ZNS-Anfälle, Nach-handschwäche -> E
12845	Dackel	° m.	16	ZNS-Anfälle -> E
14460	Pudel	w.	15	Plötzl. Tod auf Spaziergang
14854	Berner-Sennenhd	* m.	8	Progr. Lahmheit, Harninkont. -> E
15041	Whippet	m.	13	Unfall -> Harn-Inkontinenz -> E
H/D 1092	Boxer	* m.	13	Rezidiv. Magen-drehung -> E
H/E 775	Kurzhaar-dackel	° w.	12	Akute Dyspnoe -> Tod
H/E 1102	Pudel	m.	14	Prostatahyperpl., Perinealhern. -> E
H/E 1203	Dalmatiner	* m.	12	Nasentumor -> E
H/E 423	Labrador	* w.	14	Magendrehung, Tum. -> E
H/E 1228	Hannov. Schweisshd	* m.	14	Prostatahyperpl., Fibrosarkom -> E

H/E 1739	Belgischer * Schäferhd	m.	11.5	Lungentum. mit Metastasen -> E
H/E 1801	Bergamas- * ker	m.	12	Prostatitis, Nephritis -> E

Kontrollhunde:

<u>Nr.</u>	<u>Rasse</u>	<u>Geschl.</u>	<u>Alter</u>	<u>Kr.h./Todesurs.</u>
H/E 981	Yorkshire	m.	2	Nieren-OP -> Komplik. -> E
H4	Appenzell. Bastard	m. kastr.	3	5 x Platzwechsel, Probleme -> E
H/E 1492	Münster- länder	m.	2	Chron. Infekt.- kr.h. -> E
H/E 1584	Islandhd	m.	2	Hochgr. Blutung in Thymus -> Tod

Auffallend ist v.a., dass von den 24 Hunden nur 6, also ein Viertel weiblichen Geschlechts waren (5423, 7023, 11385, 14460, H/E 775 und H/E 423). Deshalb lag es nahe, dass es schwierig - wenn nicht unmöglich - werden würde, eine Geschlechtsdisposition in Bezug auf die gefundenen Veränderungen festzustellen. Ob männliche Hunde generell älter werden als weibliche, oder ob sich das ungleiche Verhältnis in dieser Arbeit zufällig ergeben hat, ist aus vorliegenden Daten nicht zu eruieren. Immerhin kann man auf Grund der Zahlen der Sektionen der letzten 5,5 Jahren des Veterinärpathologischen Instituts der Universität Zürich aussagen, dass das Verhältnis im allgemeinen nicht so unausgeglich ist (144 Rüden/ 133 Hündinnen über 12 J. in der Zeit zwischen September 1980 und Februar 1986).

Was die Abstammung der Hunde betrifft, so handelte es sich um 4 Pudel, 3 Dackel und 2 Berner Sennenhunde und weitere, nur durch ein Exemplar vertretene Rassen, was die Untersuchung einer Rassendisposition verunmöglichte. Im Allgemeinen altern bekanntlich grosse Hunde viel schneller als kleine Hunde (Eine Deutsche Dogge wird selten über 10 Jahre alt, während ein 14-jähriger, noch munterer Zwergpudel keine Seltenheit ist, vergl. auch Stünzi (49) 1982.). Deshalb ordnete ich die alten Hunde den zwei Gruppen "grössere"(*) Hunde und "kleinere" (°) Hunde (Grenze ca. Grösse Cocker-Spaniel) zu, wobei gewisse Hunde wegen fehlenden Angaben nicht eingeteilt werden konnten ("Bastard"=? , "Pudel"= Zwergpudel oder Riesenpudel?). So konnten die verschiedenen Rassen z.T. unterteilt und wenigstens auf eine eventuelle Grössendisposition hin untersucht werden.

Die pathologischen Veränderungen ausserhalb des Hirns, die bei den untersuchten Hunden vorlagen, sind in Tabelle 2 aufgelistet. Z.T. waren pro Hund mehrere Befunde zu erheben.

Tabelle 2:

Endokarditis valvularis	2
Hydroperikard	1
Stauungslunge	2
Lungenoedem	1
Magendrehung	2
Leberdegeneration	1
Milzreaktion	1
Tumoren der inneren Org.	6 <-
Nierenveränd./-infekt.	4 <-
Ovarialcysten / Uterusveränd.	1
Gesäuetumoren	1
Hodentumoren	3 <-
Prostatahyperplasie/-itis	6 <-
Perinealhernie	1
Hauttumoren	2
Nasentumor	1
Discushernien	2

Zu einem grossen Teil waren die Angaben unvollständig (v.a. bei den zum Teil vor langer Zeit entnommenen Gehirnböcken aus Bern), was die Aussagekraft obiger Tabelle doch um einiges schmälert. Was aber trotzdem ersichtlich ist, sind die Hauptveränderungen, bzw. diejenigen Veränderungen, die am häufigsten beim alten Hund gefunden werden. Es handelt sich v.a. um Tumoren, Nierenveränderungen und Veränderungen am Geschlechtsapparat. Das stimmt, mit Ausnahme der rel. niederen Herzveränderungsrate (unvollst. Angaben!), recht gut mit den Erfahrungen und auch den von Pauli (39) in seiner Dissertation erwähnten Befunden überein.

Von den alten Hunden aus Bern standen uns eine unterschiedliche Anzahl Hirnböcke pro Tier zur Verfügung (3 bis 13 pro Hund). Bei den restlichen Hunden untersuchten wir systematisch folgende Gehirnregionen: CORTEX FRONTALIS, PARIETALIS, OCCIPITALIS und BULBUS OLFactorIUS; NUCLEUS CAUDATUS, SEPTUMKERNE, THALAMUS und HIPPOCAMPUS; CEREBELLUM und STAMMHIRN. Ferner als extracraniale Teile des ZNS: RUECKENMARK und SPINALGANGLIEN.

D ANGEWANDTE METHODEN.

Das Untersuchungsmaterial lag einenteils als fertige Paraffinblöcke von formalinfixierten Gehirnen vor (Blöcke von Bern), anderenteils erhielten wir ganze Gehirne und Rückenmarke in Formalin gelagert, welche dann in der Neuropathologischen Abteilung des Instituts für Pathologie der Universität Basel sezziert wurden.

Die angewandten Methoden kann man - wie schon erwähnt - in "herkömmliche" (H.E., HOLMES, THIOFLAVIN) und in "neuere" Methoden (IMMUNHISTOCHEMIE) unterteilen. Das Prinzip der drei herkömmlichen Färbungen (bzw. Imprägnation beim HOLMES) möchte ich hier nicht im Detail erklären. Folgende Strukturen werden mit ihnen dargestellt:

H.E. (HAEMALAUN-EOSIN)

- | | |
|--|---------|
| -Basophiles Zytoplasma, Bakterien,
Kerne, Kalk | -> Blau |
| -Zytoplasma, Kollagen, Muskulatur,
Erythrozyten | -> Rot |

HOLMES

- | | |
|--------|-------------------------|
| -Axone | -> (Rot-
schwärzlich |
|--------|-------------------------|

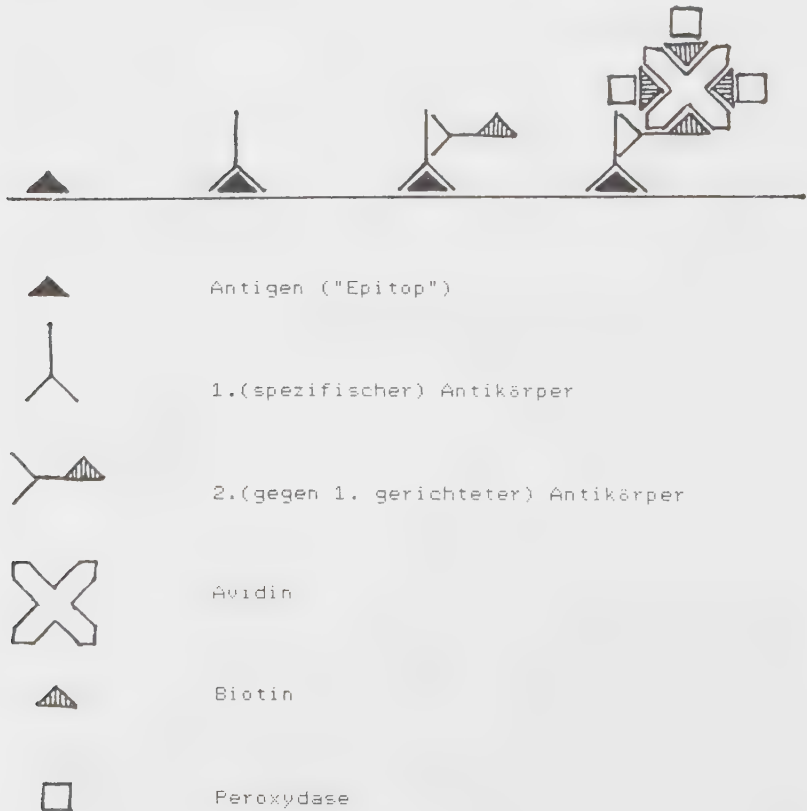
THIOFLAVIN S (Fluoreszenz-Mikroskop)

- | | |
|--------------------------|---|
| -Neurofibrillen, Amyloid | -> Leuchtend
gelb |
| -Plaques, klassische | -> Hellgelber
runder Hof
um leuchtend
gelbes Zentrum |
| -Lipofuszin | -> Hellorange
Granula |
| -Plasma, Erythrozyten | -> Matt gelb |

Bei der Immunhistochemie wendeten wir die sogenannte ABC-Methode (Hsu et. al. 1981 (23)) an, die - wie die wohl bekanntere PAP-Methode (Sternberger 1979 (46)) - eine Immunoperoxydasefärbung ist: Ein erster Antikörper ist spezifisch gegen das betreffende Antigen im Gewebeschnitt gerichtet. Der zweite Antikörper, welcher fähig ist, sich an den ersten zu binden, ist mit Biotin conjugiert. Als drittes wird dann ein Gemisch von mit dem Enzym Peroxydase

conjugiertem Biotin und Avidin dazugegeben. Jeweils ein "freies" Avidin bindet sich ans Biotin des zweiten Antikörpers, worauf die Peroxydase frei ist, um mit dem entsprechenden Substrat (hier DAB = Diaminobenzidin-tetrachlorid und H_2O_2) zu reagieren, was sich in einer bräunlichen Färbung der betreffenden Stelle äussert. Zuvor musste jeweils die endogene Peroxydase gestoppt werden (Kontrolle mit PBS-Puffer anstelle von Antikörper). Als Gegenfärbung, zur Orientierung bei den ersten Schnitten, diente Meyer's Hämalaun.

Das Prinzip dieser Färbung wird in folgendem Schema wiedergegeben:



ABC - Inkubationen an Paraffinschnitten

- ABC-Kit (Mouse)
- aufgeklebte Paraffinschnitte nötig
- Entparaffinierung: 2 x 10' Xylol
1 x 10' Abs.
1 x 5' 96% Alk.
1 x 5' 70% Alk.
1 x 5' Tris-Puffer } 0,5 M ph 7,6
1 x 10' Tris-Puffer }
- Stoppen der endogenen Peroxidase: Methanol-H₂O₂ 0,3%
30 Min. (400 ml Methanol + 4 ml
H₂O₂ 30%)
- 2 x 5' PBS/Tris (9+1) 0,5 M ph 7,6
- 15' Normalserum
- G.N. primärer Antikörper bei 4°C
- 2 x 5' PBS/Tris
- 30' anti-Maus-Biotin (Zimmertemperatur)
- 2 x 5' PBS/Tris
- 30-45' Avidin-Biotin-Peroxidase
- 2 x 5' PBS/Tris
- 5' DAB-Puffer (0,05 M Tris ph 7,6)
- DAB 3,3 Diaminobenzidin-tetrahydrochlorid (SERVA), H₂O₂
(Merck)
 - * 2,5 mg DAB in 5 ml Tris 0,05 M ph 7,6 gut dispergieren
 - * filtrieren
 - * mit H₂O₂ versetzen: 0,01% d.h. Vorverdünnung aus 30% 1:30 in aqua dest.; davon 50 ul DAB/Tris
- stoppen in PBS
- 2 x 5' waschen in PBS
- 10' 0,04% }
- 2 x 5' waschen in PBS } nur falls Resultate etwas hell
- aqua dest.
- Meyer's Hämalaun (je nach Reife der Lösung)
- kurz spülen in Leitungswasser
- 5' bläuen in warmem Wasser
- 10' wässern
- aufsteigende Alkoholreihe (70%, 96%, Abs., Xylol)
- eindecken mit Eukitt

Die verwendeten monoklonalen Antikörper (mAb) und polyklonalen Seren (= 1. Antikörper) und ihre entsprechende Färbespezifität beim Menschen sind der Tabelle 3 zu entnehmen. Die Informationen dazu stammen v.a. aus den Arbeiten von Kahn et. al. 1985 (26), Anderton et. al. 1982 und 1984 (2,3), Ulrich et. al. 1984 (51), Brion et al. 1985 (6), Miller et. al. 1986 (35) und Miller et. al. 1986 (36).

- Monoklonale Antikörper (mAB):

147 (Primäre Sensibilisierung mit
Rattenhirnprotein; Anderton et. al. 1982)

pos. angefärbt: - normale humane Neurofilamente
- Axone
- Korbfasern und Fasern von
Neuronen im Cerebellum
- z.T. Fasern von Neuronen
im Cortex und in sub-
corticaler weisser Substanz
- gelegentl. Neuriten in sPl

nicht angefärbt: - NFV
- Pickkörper
- granulovakuoläre Degeneration
- Amyloid

BF 10 (Primäre Sensibilisierung mit
Hippocampusextrakt von 2 Patienten mit DAT,
Anderton et. al. 1982)

pos. angefärbt: - Normale humane Neurofilamente
- Axone, auch geschwollene
- Korbfasern und Fasern von
Neuronen im Cerebellum
- NFV
- die meisten Neuriten in sPl
- Pickkörper
- z.T. Fasern von Neuronen
im Cortex und in sub-
corticaler weisser Substanz
- selten grosse Granula in
granulovakuolärer Degeneration

nicht angefärbt: - Amyloid

RT 97 (Primäre Sensibilisierung mit
Rattenhirnprotein; Anderton et. al. 1982)

pos. angefärbt: - Neuriten in sPl
- NFV
- Pickkörper
- Die Mehrheit der Granula
in granulovakuolärer
Degeneration

nicht angefärbt: - Amyloid

SD8

(Primäre Sensibilisierung mit Fraktionen von normalen Hirnstämmen; Methode nach Wood and Anderton 1981, s. Miller et. al. 1986 (36))

pos. angefärbt: - über 90% der NFV
- Korbfasern im Cerebellum
- senile Plaques

- Polyklonale Seren:

ANTI-NFV-SERUM

(Primäre Sensibilisierung mit Fibrillenveränderungen; Methoden nach Selkoe et. al. 1982 und Ihara et. al. 1983, s. Brown et. al. 1985 (6))

pos. angefärbt: - NFV sehr spezifisch (auch an Peripherie von Plaques)

nicht angefärbt: - alle anderen Strukturen, weder in normalen hum. Cortex noch bei DAT insbesondere A-one

E RESULTATE.

1) Makroskopische Befunde (Hirnsektion)

Von den 24 untersuchten Hundehirnen wurden 12 in der Neuro-pathologischen Abteilung des Instituts für Pathologie der Universität Basel bearbeitet. Von den restlichen 12 waren nur teilweise Angaben über die makroskopischen Befunde vorhanden. Es handelte sich v.a. um leichtgradige Meningealfibrosen und um Ventrikelerweiterungen, die wir auch z.T. bei den von uns seziierten Gehirnen feststellen konnten. Wir verzichteten darauf, die Gehirne zu wägen, da die entsprechenden Rassestandards, die zu Vergleichszwecken nötig gewesen wären, nicht vorhanden sind. Deshalb konnten wir auch die beim Menschen vorkommende und beim Hund ebenfalls beschriebene Hirngewichtsabnahme (Ketz 1959 (27)) nicht beurteilen. Bei einem Hirn fiel ein Entmarkungsherd im occipitotemporalen Cortex auf (H/E 1223), ein Hirn wies mehrere lokale Blutungen verschiedenen Durchmessers (zwischen 1 und 4 mm) an diversen Stellen im Cortex, Stamm und Cerebellum auf (H/E 1228) und eines war auffallend anämisch (H/E 1584 - hochgradige Blutung in den Thymus). Ansonsten waren keine aussergewöhnlichen Befunde zu erheben.

2) Mikroskopische Befunde: a) HERKOEMMLICHE METHODEN

Die Befunde sind in Tabelle 4 zusammengestellt. Ich hielt mich dabei z.T. an die Kriterien von Pauli (s. S.4). Hauptgewicht legte ich aber vor allem auf diejenigen Veränderungen, welche mit der DAT im Zusammenhang stehen. Das heisst in erster Linie die fünf Hauptveränderungen der DAT: Gefässamyloidose, sPl, NFV, Hirankörper und granulovakuoläre Degeneration (Ulrich et al. 1985 (54)). Die Gefässamyloidosen und die senilen Plaques habe ich - wie es häufig gemacht wird - in je vier Untergruppen unterteilt:

Gefäßamyloidose: Gefäßamyloidose im Parenchym

Gefäßamyloidose in den Leptomeningen:

- kleinfleckige Form
- segmentale Form
- rohrartige Form

Senile Plaques: "Very early" Plaque

Primitive Plaque

Klassische Plaque

Burned out Plaque

Zur genauen Beschreibung dieser verschiedenen Formen verweise ich auf die Literatur (Z.B. Pauli 1970 (39) und Ulrich 1985 (50)) und auf Photos (Abb.2, Abb.3, Abb.5, Abb.6, Abb.9) in dieser Arbeit. Neben der Anzahl der Hunde, bei denen die Veränderungen vorkamen, sind auch ihre häufigsten Lokalisationen und diejenigen Färbungen (bzw. Imprägnationen), welche die besten Resultate lieferten, in Tabelle 4 erwähnt. Die Resultate der 4 jungen Kontrollhunde sind ebenfalls - zur Illustration- in der Tabelle aufgelistet.

Tabelle 4: (Untersuchungsgut: 20 alte und 4 junge Hunde)

<u>Veränderung</u>	<u>Darstellungs-</u> <u>methode</u>	<u>Anzahl</u> <u>Hunde</u> alt/jung (20)/(4)	<u>Haupt-</u> <u>lokalisation</u>	
Gliavermehrg.	H.E.	20	1	N.caudatus! L.olfact. L.frontalis/Stamm
Satellitose um Nn.zellen	H.E.	19	2	L.frontalis L.pariet./Hippoc.
Satellitose um Gefäße	H.E.	16	2	L.frontalis N.caudat./Ll.occip. und parietal.
Lipofuszin	H.E., Thiofl.	17	-	Stamm/RM/Spinalggl.
Hämosiderin (lokal)	H.E.	7	-	Ll.pariet., occ., temp./N.caud./Cere- bellum
Gefässamyloid. im Parenchym	Thiofl. (Holmes)	13	-	Ll.front., pariet., occip., temp., olfact.
Gefässamyloid. kleinfleckig in Leptomen.	Thiofl. (Holmes)	17	-	Ll.front., pariet. occip., olfact.
Gefässamyloid. segmental in Leptomen.	Thiofl. (Holmes)	16	-	Ll.front., pariet. occip., olfact.
Gefässamyloid. rohrartig in Leptomen.	Thiofl. (Holmes)	18	-	Ll.front., pariet., occip.
sen. Plaques "very early"	Thiofl., Holmes	8	-	Ll.front., pariet., temp./Stamm
sen. Plaques primitiv	Thiofl., Holmes	13	-	Ll.front., pariet., temp./Stamm
sen. Plaques klassisch	Thiofl., Holmes	10	-	L.frontalis Ll.pariet., occip., temp., olfact.
sen. Plaques burned out	Thiofl., Holmes	8	-	Ll.front., pariet., occip., temp./Stamm

Neben den erwähnten Veränderungen kamen noch bei
4 alten Hunden vereinzelt intrazytoplasmatische (bei 2
auch intranukleäre) Einschlusskörper vor (5266, 10630,

11385, 12609). Bei Hund 7008 war in einer Zelle eine vakuoläre Degeneration (ohne Granula) vorhanden.

Auch sah man vereinzelt lokale Entzündungen, Nekroseherde, Vakuolen, Thromben und Blutungen. Derjenige Hund, bei dem schon makroskopisch viele Hirnblutungen aufgefallen waren (H/E 1228), zeigte als Reaktion auffallend viele Leukozyten in den Blutgefässen. Anamnestisch wies nichts auf ein Hirngeschehen (Prostatahyperplasie, Fibrosarkom → Euthanasie (auch keine Metastasen sichtbar) hin.

Wir fassen hier die wichtigsten Befunde aus Tab.4 zusammen:

Alle Hunde zeigten lokale Gliavermehrungen, welche vor allem im Nucleus caudatus sehr umfangreich waren (s. Abb.1).

Bei 17 der 20 alten Hunden waren Lipofuscinablagerungen (s. Abb.4), zum Teil in grosser Zahl, zu sehen.

Gefässamyloidosen waren bei 18 der 20 alten Hunde vorhanden (s. Abb.6).

Senile Plaques waren nicht ganz so häufig zu finden.

Nur 14 der 20 alten Hunde wiesen diese Veränderung auf, wobei 6 Hunde nur in relativ kleiner Zahl. Auffallend war der Umstand, dass im Gegensatz zum Menschen der Hippocampus recht wenig mit sPl befallen war. Interessant auch, dass bei 5 Hunden sPl - wenn auch z.T. in kleiner Anzahl - im Cerebellum, wo sie beim Menschen normalerweise fehlen, vorhanden waren (5266, 7023, 10630, 12609, H D 1092).

Die Plaques beim Hund sind im übrigen z.T. denen des Menschen sehr ähnlich - ihr Durchmesser ist jedoch um einiges kleiner (5-50 μm , statt ca. 100 μm beim Menschen) und z.T. sind sie mehr strukturiert (s. Abb.2).

Vergleicht man die Hunde mit Gefässamyloidosen mit denjenigen mit sPl in unserem Untersuchungsgut, so erkennt man, dass die beiden Veränderungen nicht unbedingt parallel zu gehen scheinen. So gab es von den 18 Hunden mit Gefässamyloidose immerhin 4, welche keine sPl aufwiesen (H/E 1228, H/E 423, H/E 1203, 14460). Die zwei

Hunde, die keine Gefässamyloidosen zeigten, wiesen - zwar wenige - sPl (14854, H/E 775) auf.

Das stimmt auch mit den Erfahrungen in der Humanmedizin überein. So sind auch in einer relativ grossen Zahl von Patienten mit DAT cerebrale Gefässamyloidosen vorhanden (Glenner 1983 (20)). Gelegentlich kommen aber auch Gefässamyloidosen ohne die anderen typischen Veränderungen bei der DAT vor (Griffiths et. al. 1982 (21)).

Trotz intensivstem Absuchen der verschiedenen Schnitte (inclusive Spinalganglien) konnten bei keinem der alten Hunde sichere NFV gefunden werden. Ebenso fehlten granulovakuoläre Degenerationen und Hirankörper.

Eine allfällige Geschlechtsdisposition konnte - wie schon erwähnt - nicht beurteilt werden (nur 6 Hündinnen im Untersuchungsgut).

Die Relation der senilen Veränderungen zur Körpergrösse der Hunde zeigte folgendes: Die "grösseren" Hunde schienen eher weniger Veränderungen - vor allem weniger senile Plaques - aufzuweisen, als die "kleineren" Hunde. Alle der 5 "kleineren" und nur 4 der 9 "grösseren" Hunde hatten senile Plaques. Bei den Gefässamyloidosen war es nicht so auffällig: 4 der 5 untersuchten "kleineren" und 8 der 9 "grösseren" alten Hunde zeigten diese Veränderung, was sich ungefähr entspricht (s. Tab.5).

Ebenfalls auffallend waren die Resultate, wenn man die Anzahl der Veränderungen - vor allem der Gefässamyloidosen - mit dem (absoluten) Alter der Hunde verglich. Die Hunde über 14 J. zeigten durchwegs mehr (v.a. mehr Formen von) Gefässamyloidosen als die Hunde unter 14 Jahren. Total wiesen 8 der 10 alten Hunde über 14 J. und alle der 10 Hunde unter 14 J. Gefässamyloidosen auf. Senile Plaques waren in beiden Gruppen bei 7 der 10 Hunden vorhanden (s.Tab.6). Zur Illustration sind in Tabelle 6a) die Resultate der jungen Hunde nochmals zusammengestellt.

Tabelle 5:

	<u>Gefässamyloidosen</u>				<u>senile Plaques</u>			
	a)	b)	c)	d)	A)	B)	C)	D)
<u>"kleine"</u>								
<u>alte Hunde:</u>								
4037	+	+	+	+	+	+	+	+
5423	+	+	+	+	-	-	+	+
7008	+	+	+	+	+	+	+	+
12845	+	+	+	-	-	+	+	+
H/E 775	-	-	-	-	-	+	-	-

<u>"grosse"</u>								
<u>alte Hunde:</u>								
5266	+	+	+	+	+	+	+	+
12609	+	+	+	-	+	+	+	+
14854	-	-	-	-	+	+	-	-
H/D 1092	+	+	-	-	-	+	-	-
H/E 1203	-	+	+	+	-	-	-	-
H/E 423	-	+	+	+	-	-	-	-
H/E 1228	-	+	+	+	-	-	-	-
H/E 1739	-	+	+	-	-	-	-	-
H/E 1801	-	+	+	+	-	-	-	-

a) im Parenchym	A) "very early"
b) in Leptomen. - kleinfleckige Form	B) primitive
c) " - segmentale Form	C) klassische
d) " - rohrartige Form	D) burned out

Anzahl Veränderungen bei **"kleinen"** alten Hunden zu
Anzahl Veränderungen bei **"grossen"** alten Hunden:

a) 4/5 zu 3/9 !	A) 2/5 zu 3/9
b) 4/5 zu 8/9	B) 4/5 zu 4/9 !
c) 4/5 zu 7/9	C) 4/5 zu 2/9 !
d) 3/5 zu 5/9	D) 4/5 zu 2/9 !

Total:

<u>"kleine"</u>	Gef.am.	sPl	<u>"grosse"</u>	Gef.am.	sPl
<u>alte Hunde:</u>	4/5	5/5	<u>alte Hunde:</u>	8/9	4/9

Total:

<u>alte Hunde</u> <u>unter 14 J.</u>	Gef.am. 8/10	sPl 7/10	<u>alte Hunde</u> <u>über 14 J.</u>	Gef.am. 10/10	sPl 7/10
---	-----------------	-------------	--	------------------	-------------

Tabelle 6a):

<u>Alter</u>		<u>Gefässamyloidosen</u>				<u>senile Plaques</u>			
		a)	b)	c)	d)	A)	B)	C)	D)
<u>junge Hunde</u>									
H/E 981	2	-	-	-	-	-	-	-	-
H4	3	-	-	-	-	-	-	-	-
H/E 1492	2	-	-	-	-	-	-	-	-
H/E 1584	2	-	-	-	-	-	-	-	-

Abschliessend möchte ich nochmals auf die Resultate der jungen Hunde zu sprechen kommen:

Gliavermehrungen (auch in Form von Satellitosen) waren z.T. bei 3 der 4 Hunde - zwar in geringerer Anzahl als bei den alten Hunden - vorhanden. Lipofuscin sah man nur vereinzelt, wogegen weder Hämosiderin, Gefässamyloidosen, sPl noch Einschlusskörper oder andere oben erwähnte Veränderungen gefunden werden konnten.

Die extreme Gliavermehrung (Gliaknötchen, Glianarben) im N.caudatus (s. Tab.4), die bei 16 alten Hunden gefunden wurde, war bei den 4 jungen Hunden nicht im gleich starken Ausmass zu sehen. Vereinzelt kleine Knötchen waren zwar bei 3 der 4 jungen Hunde auch vorhanden (weniger als fünf pro Schnitt), aber lang nicht so auffällig wie bei den alten Hunden. Direkt subependymal im N.caudatus sah man dagegen auch z.T. bei den jungen Hunden schon einige Zellvermehrungen. Wenn man die Ependymdicke im weiteren Sinne (also nicht nur die Ependymzellen selbst) von den jungen mit derjenigen von den alten Hunden vergleicht, so fällt denn auch auf, dass sie in beiden Gruppen etwa gleich

gross ist (zwischen 20 und 50 μ m). Welche Bedeutung dieser Gliavermehrung im N.caudatus zukommt, sei dahin gestellt. Man könnte sie sich eventuell als eine Reaktion auf ein toxisches (infektiöses?) Agens, welches vom Ventrikelsystem herkommt oder als Folge von Liquordruckveränderungen vorstellen.

b) IMMUNHISTOCHEMIE

Die in dieser Arbeit beschriebenen immunhistochemischen Untersuchungen, wurden an 7 alten Hundehirnen (bei 2 Hunden je zwei verschiedene Schnitte) und - zur Kontrolle - bei den 4 jungen Hundehirnen (bei 1 Hund zwei verschiedene Schnitte) und beim Gehirn von einer Frau, die an DAT gelitten hatte, vorgenommen. Von den 20 alten Hunden wurden jene ausgewählt, welche viele Plaques aufwiesen, ferner einige Schnitte durch den Hippocampus und der Schnitt des Hundes 10630, der mit Staupe-Antigenen eine positive Reaktion gezeigt hatte (s. Anhang S.40). Insgesamt zeigten alle der 7 untersuchten alten Hundehirne mehr oder weniger viele senile Plaques. Bei allen 11 Hundehirnen und beim menschlichen Gehirn überprüften wir die Reaktion mit den Antikörpern 147, BF 10 und RT 97. Ausser bei drei alten Hunden (7023, 15041, 10630), bei welchen in der ersten Serie (147, BF 10, RT 97) keine besonderen Befunde zu erheben waren, inkubierten wir alle (z.T. nicht beide Schnitte) noch zusätzlich mit dem Antikörper 8D8 und dem Anti-NFV-Serum. Die Resultate der Untersuchungen sind auf den nächsten Seiten zusammengestellt.

mAB 147:

Axon und Axonschwellungen waren bei allen (sowohl den alten als auch den jungen) Hunden positiv angefärbt.

Korbfasern waren bei dem einen alten Hund (5266), dessen Cerebellum untersucht wurde, wie beim Menschen (Anderton et. al. 1982 (2)) deutlich positiv.

Auffallend ist, dass sich bei 4 von 7 alten Hunden Perikarven und Dendriten von Nervenzellen deutlich angefärbt haben, was beim Menschen nicht beobachtet werden kann. Im Gegensatz dazu haben sich nur bei einem der 4 jungen Hunde einzelne Nervenzellen (incl. Kerne) schwach angefärbt.

Plaques, NFV, Hiranokörper und Pickkörper waren bei keinem der Hunde zu finden.

Bei einem Hund (5266) wurde ein Degenerationszeichen in einzelnen Nervenzellen gefunden, welches der granulovakuolären Degeneration beim Menschen relativ ähnlich sieht, und dort durch den Antikörper 147 nicht angefärbt wird (Kahn et. al. 1985 (26)). Die gefundene Veränderung bestand allerdings nur aus Vakuolen, die keine Granula enthielten (s. Abb.10).

mAB BF 10:

Im Gegensatz zum Menschen (Anderton et. al. 1982 (2)) wurden bei keinem (!) der Hunde Axone angefärbt. Das scheint ebenfalls für die Axone der Korbzellen im Cerebellum zu gelten (nur Hund 5266).

Bei 2 von den 7 alten Hunden haben sich, im Gegensatz zu den jungen Hunden, Perikaryen - zwar schwach - angefärbt.

Bei einem alten Hund (5266) färbten sich senile Plaques deutlich an.

NFV, Hiranokörper, Pickkörper und granulovakuoläre Degenerationen waren bei keinem der Hunde zu finden.

mAB RT 97:

Axone und Axonschwellungen waren bei allen (alten und jungen) Hunden positiv angefärbt (s. Abb.8).

Wie mit mAB 147 färbten sich die Korbfasern des Cerebellums von Hund 5266 deutlich an.

Perikaryen und Dendriten von Nervenzellen haben sich bei den alten und bei den jungen Hunden etwa gleich angefärbt: Bei einem von 7 alten Hunden und bei einem von 4 jungen

Hunden deutlich - wobei noch bei einem weiteren alten und 2 weiteren jungen Hunden z.T. einzelne Zellen schwach angefärbt waren.

Wie mit mAB BF 10 färbten sich beim selben Hund senile Plaques deutlich an (s. Abb.9).

NFV, Hiranokörper, Pickkörper und granulovakuoläre Degenerationen waren bei keinem der Hunde zu finden.

mAB 8D8:

Axone und Axonschwellungen waren bei allen (alten und jungen) Hunden positiv angefärbt.

Perikaryen und Dendriten von Nervenzellen waren bei 2 der 4 untersuchten alten und bei einem der 4 jungen Hunde deutlich positiv (bei einem weiteren jungen Hund schwach positiv).

Nur mit diesem Antikörper reagierten auch Zellen der Hippocampusgegend bei jungen Hunden - wenn auch nur schwach.

Plaques, NFV, Hiranokörper, Pickkörper und granulovakuoläre Degenerationen waren bei keinem der Hunde zu finden.

Anti-NFV-Serum:

Wie beim Menschen waren bei keinem der Hunde Axone angefärbt.

Bei allen alten Hunden, deren Hirn untersucht wurde, färbten sich einzelne Perikaryen von Nervenzellen - zwar ziemlich schwach - positiv an, was bei keinem der jungen Hunde der Fall war. Dies bezieht sich vor allem auch auf die Pyramidenzellen des Hippocampus, welche z.T. mitsamt den Dendriten betroffen waren.

Bei einem alten Hund (H/E 1102) färbten sich neben den Nervenzellen auch relativ viele Gliazellen positiv an.

Plaques, NFV, Hiranokörper, Pickkörper und granulovakuoläre Degenerationen waren mit dieser Methode bei keinem der Hunde zu finden.

Allgemeines:

Die Gefäßwände waren bei allen (alten und jungen) Hunden unregelmässig angefärbt, und zwar sowohl wenn monoklonale Antikörper, Seren als auch PBS-Kontrolle zur Anwendung gelangten. Zum Teil war die Anfärbung sehr deutlich (v.a. Adventitia und Muskularis), zum Teil war sie nur sehr schwach zu erkennen (mAB BF 10, Anti-NFV-Serum junge Hunde).

Bei allen Färbungen waren die Ganglienzellen des Nucleus mesencephalicus N. trigemini im Hirnstamm (5266, 11385) deutlich positiv angefärbt (Schnitte von der gleichen Stelle fehlten bei den jungen Hunden). Die entsprechenden PBS-Kontrollen waren immer negativ, was die Anwesenheit eines Pigmentes mit ähnlicher Farbe ausschliesst.

Perikaryen von Nervenzellen waren allgemein bei den alten Hunden deutlich häufiger angefärbt als bei den jungen, wo z.T. nur vereinzelte Zellen (aber das bei 3 der 4 Hunde) jeweils mit mAB 147, RT 97 und/oder 8D8 meist schwach gefärbt waren. Vor allem im Hippocampus (Pyramidenzellen) bzw. in der F.dentata fielen bei den alten Hunden viel häufiger angefärbte Perikaryen und z.T. auch Dendriten auf (s. Abb.11 und 12). An dieser Stelle wurde nur mit mAB 8D8 bei den jungen Hunden überhaupt eine Reaktion beobachtet. Bei zwei Hunden waren neben Perikaryen auch Kerne deutlich angefärbt: 5266 (mit mAB 147) und H4 - ein junger Hund - (mit mAB 147, RT 97 und 8D8).

Senile Plaques wurden beim Hund 5266 - der schon mit den herkömmlichen Färbemethoden rel. viele Plaques zeigte - sowohl mit mAB BF 10 als auch mit RT 97 deutlich angefärbt (Was sich mit den Resultaten beim Menschen deckt, Anderton et. al. 1982 (2).)

Mit keinem Antikörper bzw. Serum färbten sich allfällige NFV, Hirano- oder Pickkörper an. Auch eindeutige granulovakuoläre Degenerationen konnten keine beobachtet werden (Vergleiche unter "147" oben).

F DISKUSSION.

1. Untersuchung mit herkömmlichen Mitteln:

Was die Gefässamyloidosen betrifft, so stimmen meine Resultate im grossen und ganzen mit früheren Untersuchungen (z.B. V.Braunmühl 1956 (5) und Pauli 1970 (39)) überein: Hauptlokalisation dieser Veränderung sind sicher der gesamte Cortex (Gefässe im Parenchym) und die Leptomeningen. Erstmals beschrieben wurden in dieser Arbeit Gefässamyloidosen im Kleinhirn und in verschiedenen Kerngebieten des Telencephalons und im Hirnstamm. Bei den senilen Plaques habe ich im vorliegenden Untersuchungsgut etwas andere Resultate als V.Braunmühl und Pauli erhalten: Beide Autoren fanden die sPl nur im Cortex, bzw. Pauli noch vereinzelt im Hippocampus. Die übrigen Regionen - insbesondere der Hirnstamm - sind nach diesen Autoren frei von Plaques. Im vorliegenden Material fanden sich diese Veränderungen bei immerhin 7 Hunden auch im Hirnstamm, bei 5 Hunden im Kleinhirn und bei wenigen auch in Kerngebieten des Grosshirns und im Rückenmark. Leider waren die betreffenden Veränderungen nicht immer an den selben Stellen zu finden, sodass es auch schwierig - bis unmöglich - erscheint, eine Theorie über deren Pathogenese aus ihrer Lokalisation abzuleiten. Hätte man z.B. an einem Ort immer sPl gefunden, an anderen Stellen aber nur ab und zu, wäre der Verdacht einer möglichen Eintrittspforte eines schädigenden Agens, eventuell eines Virus, nahegelegen. Dafür lässt das hier gefundene breite Verteilungsmuster der Veränderungen an eine hämatogene Ausseet denken.

Die Resultate aus den Tabellen 5 und 6 deuten einerseits darauf hin, dass kleinere Hunde eher mehr sPl zu haben scheinen als grössere Hunde und andererseits, dass sowohl Gefässamyloidosen (Gef.am.) als auch senile Plaques altersabhängig sind. Die kleinen, ganz alten Hunde haben in unserem Untersuchungsgut die meisten Veränderungen gezeigt. Vergleicht man diese interessante Gegebenheit mit den Resultaten anderer Autoren, so scheint sich die

Beobachtung zu bestätigen:

Bei den von Pauli untersuchten Hunden, deren Rasse bekannt war und die somit der Grösse nach eingeteilt werden konnten, zeigten nur 3 von 10 "grösseren" Hunden (30%) im Gegensatz zu 12 von 22 "kleineren" Hunden (54,5%) vermehrt senile Plaques. Gefässamyloidosen waren nur bei einem der 10 "grösseren" (10%) aber bei 12 der 22 "kleineren" Hunde (54,5%) vermehrt vorhanden.

Eine Altersabhängigkeit war bei den von Pauli untersuchten Hunden ebenfalls festzustellen: So zeigten 8 von 20 Hunden unter 14 Jahre (40%) im Gegensatz zu 13 von 24 Hunden über 14 Jahre (54,2%) vermehrt senile Plaques. Gefässamyloidosen waren bei 7 der 20 Hunde unter 14 Jahren (35%) und bei 11 der 24 Hunde über 14 Jahren (45,8%) vermehrt zu sehen.

Auch bei den 20 zwischen 3 und 20 Jahre alten Hunden, die v.Braunmühl 1956 untersucht hatte (Rassen leider nicht bekannt), scheint sich die Altersabhängigkeit zu bestätigen: Er fand nur bei 6 Hunden, die alle zwischen 14 und 20 Jahre alt wurden, Gefässamyloidosen und bei 3 Hunden, wovon einer 18- und einer 20-jährig wurde und von einem kein Alter angegeben war, senile Plaques. Allerdings weist v.Braunmühl auch auf einen 20-jährigen Hund hin, der weder Gefässamyloidosen noch senile Plaques aufwies.

Die 5 Hunde (und die Rhesusäffin), bei denen Wisniewski 1973 Gefässamyloidosen und senile Plaques beschrieb (59), waren ebenfalls sehr alt (zwischen 15 und 18 Jahren (bzw. die Affendame 24 J.)). Das Alter der einzelnen Hunde und ihre Rassen wurde nicht angegeben, sodass keine genauen Schlüsse aus seinen Angaben gezogen werden können.

Gesamthaft betrachtet scheint es sich zu bestätigen, dass die kleinen, ganz alten Hunde am meisten Veränderungen (Gef.am., sPl) zeigen! Das könnte darauf hindeuten, dass die Alzheimer-Veränderungen zu ihrer Entwicklung viel Zeit brauchen und darum nur bei länger lebenden Individuen zu sehen sind. Die mit 16,5 Jahren relativ alte Norwegische Elchhündin, bei der Wen et. al. (s.Einleitung S.6) NFV

gefunden haben, könnten ebenfalls für diese Annahme sprechen. Auf der anderen Seite findet man aber bei Menschen mit Trisomie 21 - die ja bekanntlich relativ rasch altern - oft NFV, was die oben genannte Hypothese wieder etwas relativiert.

2. Untersuchungen mit Immunhistochemie

Die Interpretation der unregelmässig stark angefärbten Gefässwände - sowohl bei alten als auch bei jungen Hunden (und auch bei den Untersuchungen mit den Staupeserern -s. Anhang S.40) - scheint etwas unklar. Eventuell könnte es sich um eine Reaktion mit der vielleicht z.T. unregelmässig und zu wenig abgestopften Peroxidase handeln. Dass sPl mit mAb BF 10 und RT 97 reagiert haben, deckt sich mit den Resultaten beim Menschen. Gleiches gilt für die negative Reaktion der Axone mit dem Anti-NFV-Serum und die positive Reaktion der Korbfasern im Cerebellum mit den mAb 147 und RT 97. Das bestätigt die schon von Pauli geäusserte Bemerkung, dass der Hund als Modell für die DAT geeignet sei. Andererseits waren auch einige Unterschiede zum Menschen festzustellen: Zuerst das Fehlen von NFV, granulovakuolärer Degeneration (im engeren Sinne) und Hiranokörper und schliesslich auch die negative Reaktion mit BF 10 bei Axonen. Vermutlich handelt es sich hierbei um eine artspezifische Reaktion.

Cytoskelettale Veränderungen beim alternden Menschen - Immunhistochemie:

Betrachtet man die NFV des Menschen unter dem Elektronenmikroskop (Kidd 1963 (28), Wisniewski et. al. 1975 (61)), so erkennt man, dass sie aus paarweise helikal angeordneten Filamenten (PHF = "paired helical filaments") bestehen, wobei jedes Filament einen Durchmesser von 10nm aufweist. Woraus sich die einzelnen Bestandteile der Helix zusammensetzen, ist eine Frage, die in den letzten Jahren häufig diskutiert wurde. In Frage kommen vor allem folgende drei Möglichkeiten: 1. gealterte Neurofilamente

(Durchmess. 10nm), 2. gealterte Mikrotubuli (Durchmess. 24nm, innen hohl) und 3. neu geformte pathologische Strukturen. Sowohl die Neurofilamente als auch die Mikrotubuli, die beide Bestandteile des normalen Zytoskelettes sind, haben aber eine gerade - also nicht gewundene - Form.

Heute ist man - nach einigen ultrastrukturellen und immunhistochemischen Untersuchungen (z.B. beobachteten Yen et. al. 1981 (62), dass Antiseren, die nur gegen Mikrotubuli gerichtet sind, keine NFV anfärben) der Meinung, dass die NFV zumindest zum Teil aus Neurofilamentprotein bestehen. Gambetti et. al. 1983 (19) stellen fest, dass Antikörper, welche durch primäre Sensibilisierung mit Neurofilamentfraktionen aus normalen humanen Spinalwurzeln gewonnen wurden, mit NFV von Alzheimerpatienten reagieren. Anderton et. al. 1982 (2) kommen durch ihre Untersuchungen zum Schluss, dass die NFV mindestens zwei antigenetische Determinanten mit den Neurofilamenten teilen müssen. Andere Autoren bemerken, dass einige NFV aus einem Gemisch von scheinbar normalen Neurofilamenten (gerade) und PHF bestehen (S. bei Anderton et. al. 1982).

Eine Vertiefung erfuhr die Kenntnis über PHFs durch Untersuchungen von L. und N. Sternberger. Sie kommen 1983 (47) aufgrund vieler Untersuchungen mit monoklonalen Antikörpern (Gewebe z.T. mit Phosphatasen vorbehandelt) - inclusive Immunoblot - zum Schluss, dass normale Perikaryen (und Dendriten) - im Gegensatz zu Axonen - keine phosphorylierten Neurofilamente enthalten. 1985 bzw. 1986 zeigten Sternberger et. al. (48) und Haugh et. al. (22), dass die NFV ebenfalls phosphorylierte Neurofilamentepitope enthalten. Die NFV könnten also als Folge einer pathologischen Phosphorylierung von Neurofilamenten in den Perikaryen von Nervenzellen entstehen. Von den fünf verschiedenen, gegen phosphorylierte Neurofilamente gerichteten Antikörpern, mit welchen Sternberger et. al. 1985 ihre Untersuchungen durchführten, reagierte nur einer (07-5) mit allen NFV, aber kein einziger färbte normale Perikaryen an. Das deckt sich auch mit den Resultaten von anderen Autoren. So bestätigen

Cork et. al. (7) 1986, dass die Neurofilamentproteine in Perikaryen von normalen Neuronen nicht phosphoryliert sind. Hauqh et. al. arbeiteten auch mit den Antikörpern 147, BF 10 und RT 97. Wir wissen deshalb mit Sicherheit, dass sie gegen phosphorylierte Epitope gerichtet sind (s. Immunoblotting Abb.7).

Im vorliegenden Untersuchungsgut haben sich mit mAB 147 bei 4 der 7 alten Hunde deutlich Perikaryen (u. Dendriten) angefärbt, was beim Menschen noch nie beobachtet wurde (s. oben). (Mit mAB RT 97 wurden bei einem von 7 alten Hunden und mit SDB bei 2 von 4 alten und bei 1 von 4 jungen Hunden ebenfalls Perikaryen deutlich angefärbt). Keine der positiv gefärbten Nervenzellen zeigte jedoch die typischen NFV, sodass man daraus zwei verschiedene Schlüsse ziehen könnte: Entweder war Sternberger's Behauptung, dass normale Perikaryen nie phosphorylierte Epitope enthalten, verfrüht oder aber es gibt beim Hund eine Veränderung, bei der phosphorylierte Epitope ins Perikaryon eingetreten sind und sich anfärben, ohne sich als NFV darzustellen. Man könnte sich eine Vorstufe der NFV vorstellen, bei der sich dies ereignet. Eine solche ist aber beim Menschen noch nicht beobachtet worden. Es könnte sich aber auch um ein normales Phänomen beim Hund handeln, das vielleicht in Beziehung zu dessen Alterung steht. Wichtig wäre sicher, diesem Punkt beim Menschen in Zukunft vermehrt Beachtung zu schenken, und nach eventuellen Vorstufen der NFV speziell Ausschau zu halten.

Weitere Befunde, die bei der Inkubation mit dem Anti-NFV-Serum erhoben wurden, könnten in diesem Zusammenhang auch eine gewisse Bedeutung erhalten: Bei den vier alten, mit dem Anti-NFV-Serum getesteten Hunden, reagierten (im Gegensatz zu den jungen Hunden) alle - zwar ziemlich schwach - mit einzelnen Perikaryen. Da die Anfärbungen nur wenig deutlich waren, können sie bestenfalls zu Hypothesen Anlass geben:

Das Anti-NFV-Serum färbt beim Menschen sozusagen ausschliesslich NFV an (Vergl. S.18). Es wäre möglich, dass das polyklonale Anti-NFV-Serum ebenfalls einzelne

phosphorylierte Epitope erkennt, die beim Hund schon auf normalen Neurofilamenten lokalisiert sind und bei unseren Versuchen angefärbt wurden.

Man könnte die zwar schwachen Reaktionen bei den 4 alten Hunden aber ebenfalls, wie die Resultate mit AK 147 so deuten, dass es eine Vorstufe der NFV beim Hund geben könnte.

Dass sich im allgemeinen mit allen untersuchten mAB bzw. Seren bedeutend häufiger Perikaryen bei den alten Hunden als bei den jungen Hunden angefärbt hatten (Ausnahme 8D8), deutet darauf hin, dass es sich bei diesen Reaktionen tatsächlich um eine Altersveränderung handeln könnte. Allerdings zeigte der erst 3-jährige Hund H4 sowohl mit RT 97 als auch mit 8D8 eine eindeutige Anfärbung in einzelnen Perikaryen von Nervenzellen, sodass der vermutete Zusammenhang zwischen dem Auftreten von phosphorylierten Epitopen und dem Alterungsvorgang noch nicht als erwiesen gelten kann.

G ZUSAMMENFASSUNG.

Es wurden in vorliegender Arbeit die Altersveränderungen an 20 Gehirnen von alten Hunden untersucht. Mit Hilfe der herkömmlichen - bei Hunden schon angewandten - Methoden (Haemalaun-Eosin, Silberimprägnation nach Holmes, Thioflavin S) wurden die Hauptlokalisationen der verschiedenen Veränderungen beschrieben. Auffallend waren vor allem starke Gliavermehrungen im Nucleus caudatus und das Auftreten von senilen Plaques im Cerebellum, was beides beim Menschen fast nie beobachtet werden kann. Im Vergleich mit anderen Arbeiten wurde eine positive Korrelation zwischen Alter bzw. Grösse der Hunde und der Anzahl der Veränderungen festgestellt: Je älter und je kleiner die Hunde waren, desto mehr Veränderungen wiesen sie auf! Weiter wurde grosses Gewicht auf immunhistochemische Untersuchungen gelegt. Mit monoklonalen gegen Neurofilament-Epitope gerichteten Antikörpern und polyklonalen Seren wurden diejenigen Gehirne, welche die meisten senilen Plaques aufwiesen, inkubiert und die Resultate festgehalten. Der wichtigste Befund liegt in einer Anfärbung von Nervenzellperikaryen durch gegen phosphorylierte Epitope gerichtete Antikörper. Das deutet auf eine mögliche spezifische Altersveränderung beim Hund hin, die beim Menschen noch nie beobachtet wurde.

Anhang:

Bei einem Hund (10630) fielen vermehrt perivaskuläre Zellansammlungen (v.a. Glia) auf. Da sich auch wenige intrazytoplasmatische (und vereinzelt intranukleäre) Einschlusskörperchen fanden, lag der Verdacht einer Old-Dog-Encephalitis (ODE) - einer Variante der Staupe beim Hund mittleren Alters - nahe (die histopathologischen Veränderungen sind dort ähnlich). Die Verbindung zu einer allfälligen Staupevirusinfektion abzuklären, ist auch deshalb interessant, weil ein Zusammenhang der Staupe mit zwei Krankheiten des Menschen, nämlich der MS (Multiple Sklerose) und der SSPE (Subakute sklerosierende Panencephalitis) von verschiedenen Forschern vermutet wird (Vergl. auch Vandevelde et. al. 1974 (55) und Fankhauser et.al. 1982 (15)):

MS und SSPE erinnern in ihrem Verhältnis zueinander stark an die Staupe und die ODE (Vergl. Einleitung 3.51. Es handelt sich beim Hund um zwei verschiedene Krankheitsbilder, die durch das gleiche - bzw. ein nah verwandtes - Virus ausgelöst werden. Denkbar wäre ein ähnlicher Zusammenhang zwischen SSPE und MS: bei SSPE wurde Masernvirus als Ursache identifiziert, bei MS ist eine Verursachung durch dieses Virus für möglich gehalten, ist jedoch nicht erwiesen. Ein weiterer Zusammenhang könnte zwischen DAT und SSPE bestehen:

1977 finden Mandybur et. al. (33) bei einem Fall von sehr chronisch verlaufender SSPE zahlreiche NFV.

SSPE ist durch ein Masernvirus oder ein nah verwandtes Paramyxovirus verursacht. Das Virus kommt ubiquitär vor und führt unter bis jetzt unbekannten Bedingungen zur Erkrankung. Es wäre denkbar, dass seine Anwesenheit auch bei der DAT die NFV verursacht.

Als zweite interessante Tatsache in diesem Zusammenhang sind die Beobachtungen von Mandybur et. al. (1979 (34)) und Probst et. al. (1985 (42)) zu nennen: In einigen Fällen von Gefäßamyloidose beim Menschen kommen - wie auch bei

obgenanntem Hund 10630 - vasculäre und perivasculäre Zellinfiltrate vor, sodass man eine Beziehung zwischen der DAT und einem entzündlichen Prozess nicht ganz ausschliessen kann.

Das Institut für Veterinärpathologie der Universität Zürich stellte uns freundlicherweise auf unsere Anfrage hin zwei Staupe-Antiseren zur Verfügung, mit welchen wir den betreffenden Schnitt (und parallel dazu noch 2 weitere Hunde (7023, 5266), die senile Plaques zeigten) inkubierten. Zur positiven Kontrolle dienten uns 2 ebenfalls von Zürich stammende Gehirne (Blöcke und Schnitte) von akut an Staupe erkrankten Hunden. Hierbei zeigten die beiden Kontrollen je Demyelinisierungen und positiv gefärbte - sowohl intrazytoplasmatische als auch intranukleäre - Einschlusskörper. Von den 3 aus unserem Untersuchungsgut stammenden Hunden zeigte einer, weder mit dem einen, noch mit dem anderen Serum irgendwelche eindeutigen Anfärbungen, ausser den Gefässwänden (v.a. Adventitia und Muscularis), die bei allen Hunden jeweils mehr oder weniger diffus angefärbt waren. Sowohl bei Hund 10630 (mit dem ODE-Verdacht), als auch bei Hund 5266 (mit relativ vielen sPl) färbten sich einzelne Strukturen an, jedoch nie Einschlusskörperchen. Bei Hund 10630 waren es v.a. Abräumzellen, die sehr stark mit dem braunen, von der ABC-Methode herstammenden Farbstoff, angefärbt waren. Auffallend war insbesondere auch, dass viele dieser Zellen sich in Gefässnähe befanden und oft gruppenweise vorkamen. Hund 5266 zeigte nur eine eindeutig und einige fraglich angefärbte Nervenzellen. Sowohl unser Hund mit ODE-Verdacht, als auch Hund 5266 haben somit in ihrem Leben mit Staupe-Antigen Kontakt gehabt, was mit den Vaccinationen und/oder dem damaligen Staupe-Durchseuchungsgrad (Hund 10630 hat von 1956 bis 1974 gelebt, 5266 von 1949 bis 1964) zu erklären ist. Hund 10630 wurde wegen eines Hodentumors und angesichts des hohen Alters (18 J.) euthanasiert. Anamnestisch waren zwar keine zentralnervösen Symptome zu erruieren (es war immerhin eine Assymetria oculi vorhanden.). Die auffällige Reaktion mit dem Staupe-Antikörper deutet aber doch auf einen kürzlich

stattgefundenen Kontakt mit dem Staupevirus hin (Abräumzellen). Da keine Demyelinisationsherde gefunden wurden, scheint es durchaus möglich, dass hier eine - subklinische - ODE vorlag. Die Krankheit ist relativ selten und führt normalerweise zu intermittierender Depression mit Manegebewegungen, wobei nur gelegentlich Lähmungserscheinungen und Krämpfe zu beobachten sind. Nach geistig und motorischem Zerfall tritt nach einigen Monaten der Tod ein (Lincoln et. al. 1971 (31)). Vandevelde et. al. fanden 1980 (56) bei 5 Hunden mit ODE klinisch als erstes auffälliges Symptom eine Verschlechterung des Sehvermögens, dann die oben erwähnten Manegebewegungen, eine Tendenz zu convulsivem Gang und/oder eine Demenz. Auch waren Störungen der verschiedenen Reflexe (Pupillarreflex, segmentale spinale Reflexe) beobachtet worden.

Da der betreffende Hund nicht auffallend viele sPl zeigte, und Hund 7023 (der einige Plaques aufwies) überhaupt nicht mit den Seren reagierte, ist ein Zusammenhang zwischen Staupevirus und DAT unwahrscheinlich. Immerhin stellt die ODE hier einen interessanten Nebebefund dar.

F LITERATUR.

- 1 Alzheimer A.: Ueber eine eigenartige Erkrankung der Hirnrinde. Allg. Z. Psychiat. 64, S.146 (1907)
- 2 Anderton BH., Breinburg D., Downes MJ., Green PJ., Tomlinson BE., Ulrich J., Wood JN., Kahn J.: Monoclonal antibodies show that neurofibrillary tangles and neurofilaments share antigenetic determinants. Nature 298, S.84-86 (1982)
- 3 Anderton BH., Calvert R., Probst A., Kahn J.: Antibodies studies of neurofilaments and neurofibrillary tangles. J. Submikrosc. Cytol. 16 (1), S.63-64 (1984)
- 4 Bosch van den de Aguilar PH., Goemaerve-Vanneste J.: Paired helical filaments in spinal ganglion neurons of elderly rats. Virchows Arch. (Cell pathol.) 47, S.217-222 (1984)
- 5 Braunnmühl A.v.: Kongophile Angiopathie und senile Plaques bei greisen Hunden. Arch. Psychiat. Nervenkrankh. 194, S. 396-414 (1956)
- 6 Brion JP., Couck AM., Passareiro E., Flament-Durand J.: Neurofibrillary tangles of Alzheimer's disease: An immunohistochemical study. J. Submikrosc. Cytol. 17 (1), S.89-96 (1985)
- 7 Cork LC., Sternberger NH., Sternberger LA., Casanova MF., Struble RG., Price DL.: Phosphorylated Neurofilament Antigens in Neurofibrillary Tangles in Alzheimer's Disease. J. of Neuropath. and Experiment. Neurol. 45, S.56-64 (1986)
- 8 Dahme E.: Pathologische Befunde an den Hirngefäße bei Tieren. Die Veränderungen der Hirngefäße beim alten Hund. Acta Neuropath.

Suppl. I, S.54-60 (1962)

- 9 Dahme E., Deutschländer N.: Zur Frage der primären Amyloidose in Meninx- und Hirnrindengefässen beim Hund. Deutsche tierärztl. Wochenschr. 74, Nr.6/7, S.134-138 (1967)
- 10 Dahme E.: Altersveränderungen im Gehirn bei Tieren. Bull. Schweiz. Akad. med. Wiss. 24, S.133-142 (1968)
- 11 Dahme E., Spengler B.: Weitere Ueberlegungen zur Pathogenese des Altersamyloids in Meninx- und Hirnrindenarterien beim Hund. Berl. Münch. Tierärztl. Wochenschr. 89, S.64-67 (1976)
- 12 Dahme E., Weiss E.: Grundriss der speziellen pathologischen Anatomie der Haustiere. Enke Verlag Stuttgart (1983)
- 13 Fankhauser R., Luginbühl H., Mc Grath JT.: cerebrovascular diseases in various animal species. In Comperative Cardiology, Ann.N.Y. Acad. Sci.127, Art. 1, S.817-860 (1965)
- 14 Fankhauser R., Luginbühl H.: Zentrales Nervensystem. In Joest E.: Handbuch der spez. pathol. Anatomie der Haustiere. P.Parey-Verlag. Bd 3, S. 191- 436 (1968)
- 15 Fankhauser R.: Hundestaupe - Geschichte einer Krankheit. Schweiz. Arch. f. Tierheilk. 124, S.245-256 (1982)
- 16 Fischer K.: Einschlusskörperchen bei Hunden mit Staupeencephalitis und anderen Erkrankungen des ZNS. Path. Vet. 2, S. 380-410 (1965)

- 17 Forssmann WG., Heym C.: Neuroanatomie. Springer Verlag (1982)
- 18 Frauchiger E., Fankhauser R.: Vergleichende Neuropathologie des Menschen und der Tiere. Springer-Verlag (1957)
- 19 Gambetti P., Autilio-Gambetti L., Perry G., Shekett G., Crane RC.: Antibodies to neurofibrillary tangles of Alzheimer's Disease. Raised from Human and Animal Neurofilament Fraktions. Lab. Invest. 49, S.430-435 (1983)
- 20 Glenner GG.: Alzheimer's disease. Multiple cerebral Amyloidosis. In Banbury Report 15: Biological aspects of Alzheimer's disease. Ed.R. Katzman. Cold Spring Harbor Laboratory, S.134-144 (1983)
- 21 Griffiths RA., Mortimer TF., Oppenheimer DR., Spalding JMK.: Congophilic angiopathy of the brain: A clinical and pathological report on two siblings. Neurol. Neurosurg. Psychiat. 45, S.396-408 (1982)
- 22 Haugh MC., Probst A., Ulrich J., Anderton BH.: Alzheimer neurofibrillary tangles contain phosphorylated and hidden neurofilament epitopes. J. Neurol. Neurosurg. Psychiat. 49, in press (1986)
- 23 Hsu SM., Raine L., Fanger H.: Use of avidin-biotin-peroxydase complex (ABC) in immunoperoxydase techniques. J. Histochem. Cytochem. 29, S.77-80 (1981)
- 24 Imagawa DT., Howard EB., Van Pelt LF., Patryan C., Hong Dang Bui, Shapshak P.: Isolation of Canine distemper Virus from Dogs with chronic Neurological Diseases. Soc. for Experim. Biology and Medicine 164, S.355-362 (1980)
- 25 Innes JRM., Sanders LZ.: Comparative Neuropathologie.

Academic Press., S663-665 (1962)

- 26 Kahn J., Anderton BH., Probst A., Ulrich J., Esiri MM.: Immunohistological study of granulovacuolar degeneration using monoklonal antibodies to neurofilaments. J. of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry 48, S.924-926 (1985)
- 27 Ketz HA.: Die Altersveränderungen im ZNS der Haustiere. Z. Altersforsch. 13, S.103 (1959)
- 28 Kidd M.: Paired helical filaments. J. Neurol. Sci. 27, S.173-181 (1976)
- 29 Koester A.: Distemper - Animal model of human disease: subacute sclerosing panencephalitis; MS. Americ. J. of Pathology 78, Nr 2, S.361-364 (1975)
- 30 Leonhardt H.: Histologie, Zytologie und Mikroanatomie des Menschen. Georg Thieme Verlag (1977)
- 31 Lincoln SD., Gorham JR., Ott RL., Hegreberg GA.: Etiologic Studies of the old Dog Encephalitis. I. Demonstration of Canine Distemper Viral Antigen in the brain in two cases. Vet. Path. 8, S.1-8 (1971)
- 32 Lincoln SD., Gorham JR., Ott RL., Hegreberg GA.: Etiologic Studies of the old Dog Encephalitis. II. Electron Mikroskopie and Immunohistologic Findings. Vet. Path. 10, S.124-129 (1973)
- 33 Mandybur TI., Nagpaul AS., Pappas Z., Niklowitz WJ.: Alzheimer Neurofibrillary change in subacute sclerosing panencephalitis. Ann. Neurol. 1, S.103-107 (1977)
- 34 Mandybur TI.: Cerebral amyloid angiopathy. Possible

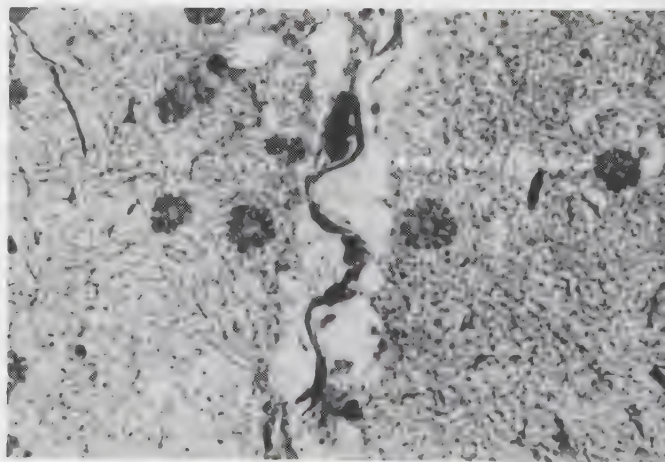
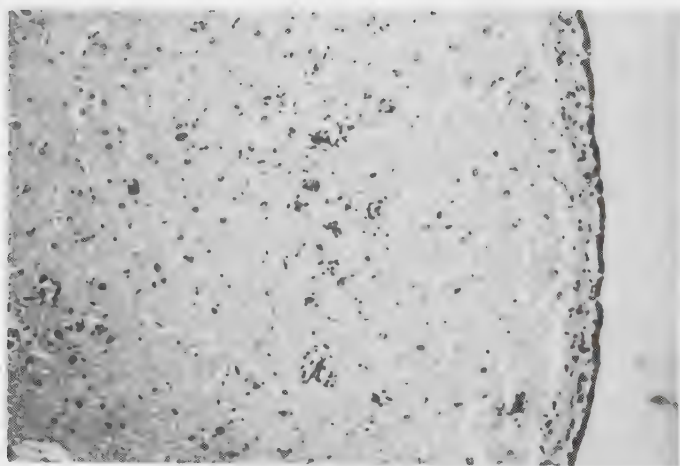
- relationship to rheumatoid vasculitis. *Neurology* 29, S.1336-1340 (1979)
- 35 Miller CCJ., Haugh M., Kahn J., Anderton BH.: The cytoskeleton and neurofibrillary tangles in Alzheimer's disease. *Trends in NeuroScience*, S.76-81 (1986)
- 36 Miller CCJ., Brion JP., Calvert R., Chin TK., Eagles PAM., Downes MJ., Flament-Durand J., Haugh M., Kahn J., Probst A., Ulrich J., Anderton BH.: Alzheimer's paired helical filaments share epitopes with neurofilament side arms. *The Embo Journal* 5 (2), S.269-276 (1986).
- 37 Müller W.: Ergebnisse vergleichender pathologisch-anatomischer Untersuchungen des Gehirns unter Berücksichtigung der Altersveränderungen. *Arch. f. Psychiatrie* 109, S. 147 (1939)
- 38 Nickel R., Schummer A., Seiferle E.: *Lehrbuch der Anatomie der Haustiere (4): Nervensystem, Endokrine Drüsen, Sinnesorgane*. P.Pare Verlag (1982)
- 39 Pauli B.: Fluoreszenz- und elektronenmikroskopische Untersuchungen der cerebralen Amyloidosis bei alten Hunden und senilen Menschen. *Diss.*, Bern (1970)
- 40 Pauli B., Luginbühl H.: Fluoreszenzmikroskopische Untersuchungen der cerebralen Amyloidosis bei alten Hunden und senilen Menschen. *Acta Neuropathologica* 19, S. 121-128 (1971)
- 41 Pauli B., Luginbühl H., Rossi GL.: Elektronenmikr. Untersuchungen der cerebralen Amyloidosis bei alten Hunden und senilen Menschen. *Acta Neuropath.* 19, S.129-136 (1971)
- 42 Probst A., Ulrich J.: Amyloid angiopathy combined with granulomatous angiitis of the central nervous

system: Report on two patients. Clinical Neuropath.4, S.250-259 (1985)

- 43 Scheidegger S.: Alterungsprozesse des ZNS beim Menschen und bei Tieren. Geront.4, S.228-224 (1960)
- 44 Scherrer HJ.: Vergleichende Pathologie des Nervensystems der Säugetiere. Georg Thieme Verlag Stuttgart (1944)
- 45 Singer M.: The Brain of the Dog in Section. W.B. Saunders Company, Philadelphia and London (1982)
- 46 Sternberger LA.: Immunocytochemistry: The Unlabeled Antibody Peroxidase-Antiperoxidase (PAP) Method. Wiley Medical Publication New York, S.104-165 (1979)
- 47 Sternberger LA., Sternberger NH.: Monoklonal antibodies distinguish phosphorylated and nonphosphorylated forms of neurofilaments in situ. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 80, S.6130-6134 (1983)
- 48 Sternberger NH., Sternberger LA., Ulrich J.: Aberrant neurofilament phosphorylation in Alzheimer's disease. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 82, S.4274-4276 (1985)
- 49 Stünzi H., Weiss E.: Allgemeine Pathologie für Tierärzte und für Studierende der Tiermedizin. P.Parey Verlag, S.18-20 (1982)
- 50 Ulrich J.: Die pathologische Anatomie der senilen Demenz. Aktuelle Gerontologie 12, S.158-161 (1982)
- 51 Ulrich J., Probst A., Anderton BH.: Alzheimer's disease and Pick's disease. Immunocytochemistry and Histochemistry. Brain Pathology 1, S.163-178 (1984)

- 52 Ulrich J.: Alzheimer Changes in Nondemented Patients Younger than Sixty-Five: Possible Early Stages of Alzheimer's Disease and senile Dementia of Alzheimer Type. *Ann. Neurol.* 17, S.273-277 (1985)
- 53 Ulrich J.: Die Alzheimerkrankheit: Neuere Befunde unter besonderer Berücksichtigung ätiologischer Gesichtspunkte. *Funkt. Biol. Med.* 4, S.140-145 (1985)
- 54 Ulrich J., Probst A., Anderton BH., Kahn J.: Dementia of Alzheimer Type (DAT). A Review of its Morbid Anatomy. *Klinische Wochenschrift* 64, S.103-114 (1986)
- 55 Vandevelde M., Fatzer R., Fankhauser R.: Chronisch-progressive Formen der Staupeencephalitis des Hundes. *Schweiz. Arch. f. Tierheilk.* 116, S.391-404 (1974)
- 56 Vandevelde M., Kristensen B., Brand KG., Green CE., Swango LJ., Hoerlein BF.: Chronic Canine distemper Virus Encephalitis in Mature dogs. *Vet. Pathol.* 17, S.17-29 (1980)
- 57 Wen GJ., Wisniewski HM., Shek JW.: Neurofibrillary changes and Pick's bodies in the aged dog. *J. Neuropath. Exper. Neurol.* 44, S.366 (1985) (Summary)
- 58 Wisniewski HM., Johnson AB., Raine CS., Kaw WJ., Terry RD.: Senile plaques and cerebral amyloidosis in aged dogs: A histochemical and ultrastructural study. *Lab. Invest.* 23, S.281-296 (1970)
- 59 Wisniewski HM., Terry RD.: reexamination of the pathogenesis of the senile Plaque. *Progress in Neuropathology* (2), S.1-26 (1973)

- 60 Wisniewski HM., Bruce ME., Fraser H.: Infections
Etiology of Neuritic (senile) Plaque in mice.
Science 190, S.1108-1110 (1975)
- 61 Wisniewski HM., Narang HK., Terry RD.: Neuro-
fibrillary tangles of paired helical filaments.
J. Neurol. Sci. 27, S.173-181 (1976)
- 62 Yen SHC., Gaskin F., Terry RD.: Immunocyto-
chemical studies of Neurofibrillary tangles.
Ann. J. Pathol. 104, S.77-89 (1981)



I PHOTOS:

Abb.1: Deutliche Gliavermehrungen im Nucleus caudatus.

Husky, 13,5 J., männlich (12609).

Haemalaun-Eosin, 10-er Objektiv.

Abb.2: Schöne senile Plaques mit radiärer Struktur im Cerebellum.

Berner Sennenhund, 15 J., männlich (5266).

Silberimprägnation nach Holmes, 40-er Objektiv.

Abb.3: Verschiedene Erscheinungsformen von senilen Plaques.

Links unten "very early" Plaque, rechts primitive Plaques.

Berner Sennenhund, 15 J., männlich (5266).

Silberimprägnation nach Holmes, 40-er Objektiv.



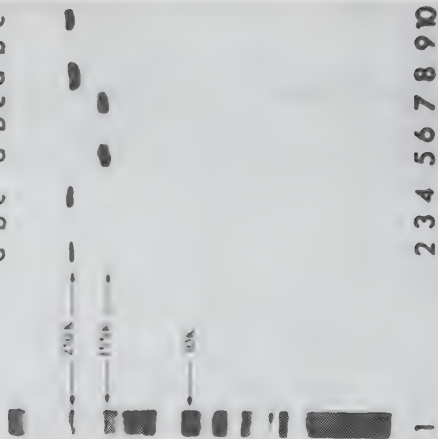
Abb.4: Fluoreszierende Lipofuszinablagerungen in der Peripherie des Zytoplasmas von Nervenzellen.
Bastard, über 16 J., weiblich (7023).
Thioflavin S, 16-er Objektiv.

Abb.5: Schöne fluoreszierende klassische Plaque mit angefärbten Zellfortsätzen in der Peripherie und Amyloid im Zentrum.
Pudel, 14 J., männlich (H/E 1102).
Thioflavin S, 40-er Objektiv.

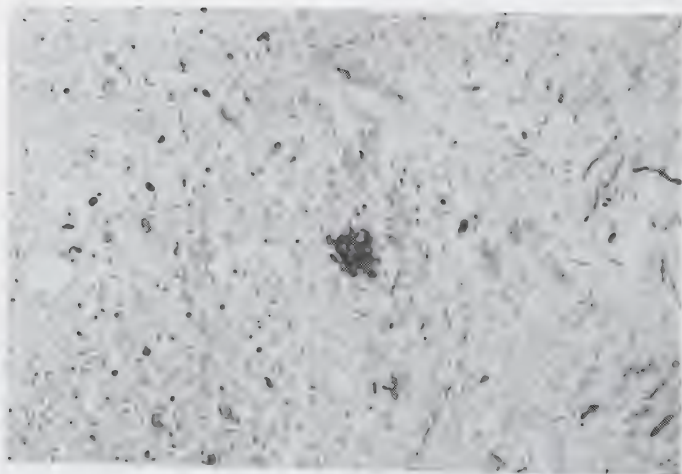
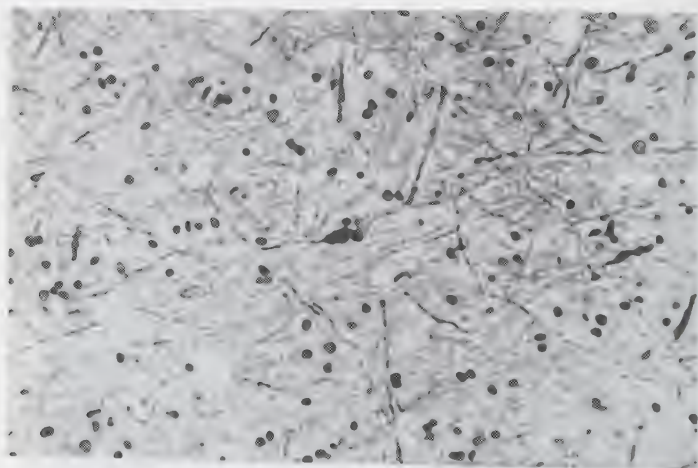
Abb.6: Segmentale Form von fluoreszierender Gefässamyloidose in einem grossen Leptomeninxgefäss.
Rauhhaardackel, 17 J., weiblich (5423).
Thioflavin S, 40-er Objektiv.

RT97 BF10 147

a b c a b c a b c



2 3 4 5 6 7 8 9 10



- Abb. 7: a Färbung mit dem entsprechenden Antikörper.
b Färbung mit dem entsprechenden Antikörper nach Vorbehandlung mit alkalischer Phosphatase (keine Anfärbung mehr).
c Färbung mit dem entsprechenden Antikörper nach Vorbehandlung mit alkalischer Phosphatase in Phosphatpuffer (wieder Anfärbung).

Damit ist gezeigt, dass die drei mAB RT 97, BF 10 und 147 phosphorylierte Epitope erkennen.

Abb.8: Angefärbte Axone, zum Teil fast ganzes Gesichtsfeld durchquerend (z.B. von rechts unten nach Mitte oben). Im Zentrum deutliche Axonschwellung.
Pudel, über 12 J., weiblich (11385).
mAB 147, ABC-Methode, 25-er Objektiv.

Abb.9: Schöne positiv angefärbte primitive Plaque. Am rechten Bildrand angefärbte Axone.
Berner Sennenhund, 15 J., männlich (5266).
mAB RT 97, ABC-Methode, 25-er Objektiv.

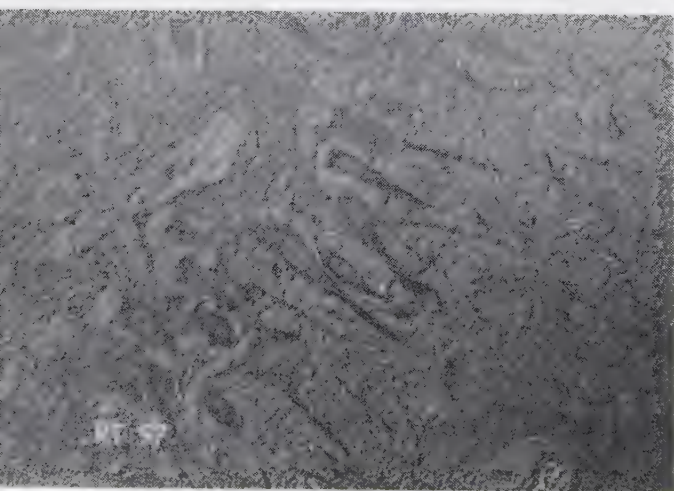
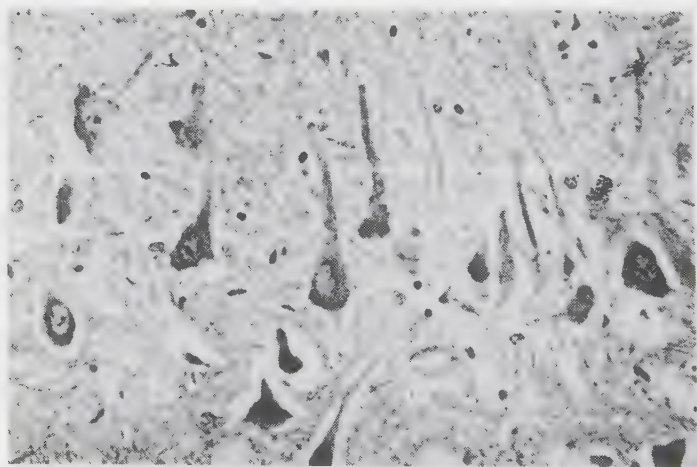
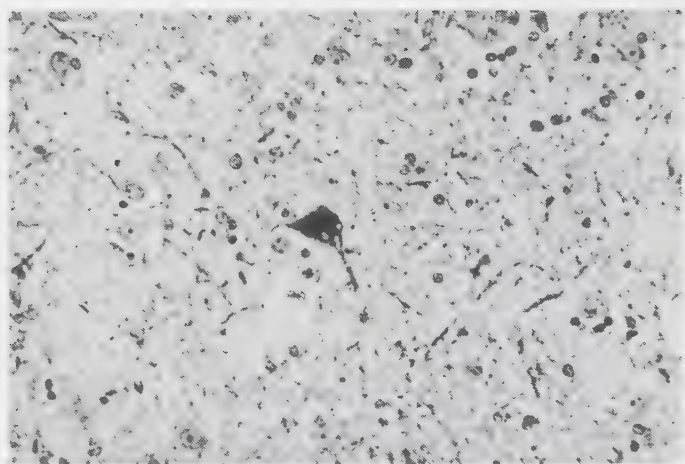


Abb.10: Stark positiv angefärbte Nervenzelle mit mehreren Vakuolen in der Peripherie des Zytoplasmas.
Angefärbte Axone im ganzen Bild.
Pudel, 18 J., männlich (10630).
mAb 147, ABC-Methode, 25-er Objektiv.

Abb.11: Positiv angefärbte Nervenzellen der Körnerschicht im Hippocampus.
Bernar Sennenhund, 15 J., männlich (52669).
mAb 147, ABC-Methode, 25-er Objektiv.

Abb.12: Schwach positiv angefärbte Nervenzellen der Pyramidenschicht im Hippocampus. Perikarien und Dendriten betroffen.
Pudel, über 12 J., weiblich (11385).
mAb RT 97, ABC-Methode, Interferenzkontrast-Mikroskop, 40-er Objektiv.

Lebenslauf: Marina Euler, Feldbergstr. 55, Basel

3.11.59	Geburt in Basel
1966 - 1970	Primarschule in Basel
1970 - 1978	Gymnasium in Basel
1978	Matura Typus C
1978 - 1979	Veterinärmedizinstudium 1. Jahr an der Medizinischen Fakultät der UNI Basel
1979 - 1983	Veterinärmedizinstudium 2.-5. Jahr an der Veterinärmedizinischen Fakultät der UNI Zürich
1983	Staatsexamen, Zürich
1984 - 1985	Schlachthofkurs im Schlachthof Basel, Assistentenstelle und diverse Vertretungen in kurativen Praxen
1985 - 1986	Dissertation (Neuropathologische Abteilung des Instituts für Pathologie der UNI Basel), Vertretungen in kurativen Praxen

Bei dieser Gelegenheit möchte ich es nicht versäumen allen, die zum Entstehen dieser Arbeit beigetragen haben, ganz herzlich zu danken:

Der gesamten Neuropathologischen Abteilung des Instituts für Pathologie der Universität Basel, in besonderer Weise Herrn Prof.J.Ulrich für die wissenschaftliche Betreuung, aber auch für das äusserst angenehme Arbeitsklima.

Den beiden medizinischen Laborantinnen A.Hossmann und C.Lautenschlager für die technische Hilfe und die Mitbenützung ihres Labors.

Frau L.Bollag und Herrn Prof.W.Meier-Ruge für die Einführung am Computer und die Ueberlassung ihres Büros.

Herrn M.Brühlmann für das Lösen von Computerproblemen und Herrn PD A.Probst für die Unterstützung bei der Suche nach Fachliteratur.

Allen Obgenannten, wie auch Herrn D.Languis für ihre freundliche Unterstützung.

Frau M.Nebiker und Herrn H-R.Zysset von der Photographischen Abteilung des Instituts für Pathologie der Universität Basel für die Uebernahme der Entwicklungsarbeiten und die fachkundige Beratung.

Dem Veterinärpathologischen Institut der Universität Zurich insbesondere Herrn Prof.H.Stünzi für das Akzeptieren des Themas und seine wertvollen Anregungen, sowie das Ueberlassen von frischen Hundehirnen und den Staupeseren.

Herrn B.Hauser für die Beschaffung des Untersuchungsgutes.

Dem Institut für vergleichende Neuropathologie der Universität Bern, insbesondere Herrn Prof.R.Fankhauser für das Ueberlassen der Hirnblöcke aber auch Herrn Prof.M.Vandewelde für die Zusendung diverser Artikel über die Staupen des Hundes.

Der Immunpathologischen Abteilung des Instituts für
Pathologie der Universität Basel, insbesondere Herrn
Prof.F.Gudat für die Benützung des Fluoreszenz-Mikroskops
und des Computers und Frau U.Dürmüller für ihre
Instruktionen.

